

Ferromagnetic particles for NMR diagnosis

Publication number: DE3508000

Publication date: 1986-09-04

Inventor: GRIES HEINZ DR (DE); MUETZEL
WOLFGANG DR (DE); ZURTH
CHRISTIAN DR (DE); WEINMANN
HANNS-JOACHIM DR (DE)

Applicant: SCHERING AG (DE)

Classification:

- international: A61K49/00; A61K49/04;
A61K49/18; C08B30/18;
C08B37/02; A61K49/00;
A61K49/04; A61K49/06;
C08B30/00; C08B37/00; (IPC1-7):
C08B37/02; A61K49/00;
C07H3/02; C08B30/18; G01N24/08

- european: A61K49/00F; A61K49/04F8;
A61K49/18P; C08B30/18;
C08B37/00M2F

Application number: DE19853508000 19850304

Priority number(s): DE19853508000 19850304

Report a data error here

Abstract of DE3508000

Diagnostic compositions which contain ferromagnetic particles are suitable for use in NMR diagnosis.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

⑬ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift
⑪ DE 3508000 A1

⑳ Aktenzeichen: P 35 08 000.0
㉑ Anmeldetag: 4. 3. 85
㉒ Offenlegungstag: 4. 9. 86

⑤ Int. Cl. 4:
C08 B 37/02
C 08 B 30/18
C 07 H 3/02
A 61 K 49/00
G 01 N 24/08

DE 3508000 A1

㉓ Anmelder:
Schering AG, Berlin und Bergkamen, 1000 Berlin, DE

㉔ Erfinder:
Gries, Heinz, Dr.; Mützel, Wolfgang, Dr.; Zurth,
Christian, Dr.; Weinmann, Hanns-Joachim, Dr., 1000
Berlin, DE

⑤④ Ferromagnetische Partikel für die NMR-Diagnostik

Diagnostische Mittel, die ferromagnetische Partikel enthalten, sind zur Anwendung in der NMR-Diagnostik geeignet.

DE 3508000 A1

8 04 03 85

3508000

PATENTANSPRÜCHE

1. Diagnostische Mittel zur Anwendung in der NMR-Diagnostik, dadurch gekennzeichnet, daß sie ferromagnetische Partikel enthalten.
2. Diagnostische Mittel gemäß Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die ferromagnetischen Partikel Eisen-, Kobalt- oder Nickel-Partikel sind.
3. Diagnostische Mittel gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die ferromagnetischen Partikel aus einem Doppelmetall-oxid/-hydroxid bestehen.
4. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen Komplexbildner enthalten.
5. Diagnostische Mittel gemäß Patentanspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Doppelmetall-oxid/-hydroxid ein Ferrit der allgemeinen Formel $M_0.Fe_2O_3$, worin M ein zweiwertiges Metallion darstellt, ist.
6. Diagnostische Mittel gemäß Patentanspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Doppelmetall-oxid/-hydroxid die allgemeine Formel $FeO.M_2O_3$, worin M ein dreiwertiges Metallion darstellt, hat.
7. Diagnostische Mittel gemäß Patentanspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Komplexbildner ein wasserlösliches Protein ist.
8. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Komplexbildner Humanserumalbumin ist.
9. Diagnostische Mittel gemäß Patentanspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Komplexbildner ein wasserlösliches Mono-, Di-, Oligo- oder Polysaccharid ist.

10. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4 und 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Komplexbildner Dextran ist, mit Ausnahme von Dextran-Magnetit.
11. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4 und 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Komplexbildner Dextrin ist.
12. Diagnostische Mittel gemäß Patentanspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Komplexbildner ein Zeolith ist.
13. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4, 5 und 12, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Magnetit-Zeolith.
14. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4, 5 und 8, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Humanserumalbumin-Magnetit.
15. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4, 5, und 9, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Galactose-Magnetit.
16. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4, 5 und 9, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Dextrin-Magnetit.
17. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4, 6 und 10, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Dextran-Eisen-Chromit.
18. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4, 5 und 10, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Dextran-Zinkferrit.
19. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4, 5 und 10, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Dextran-Magnetit-Anti-Myosin-Konjugat.
20. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4, 5 und 10, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Dextran-Magnetit-Anti-CEA-Konjugat.

21. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4, 5 und 8, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Humanserumalbumin-Magnetit-Protein A-Anti-CEA-Konjugat.
22. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 4, 5 und 8, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Humanserumalbumin-Magnetit-Protein A-Anti-Myosin-Konjugat.
23. Diagnostische Mittel gemäß Patentanspruch 1, gekennzeichnet durch einen Gehalt an ferromagnetischen Liposomen.
24. Diagnostische Mittel gemäß Patentansprüchen 1 bis 23, dadurch gekennzeichnet, daß sie pro Liter 1 μ Mol bis 1 Mol ferromagnetisches Metall enthalten.
25. Verfahren zur Herstellung der diagnostischen Mittel gemäß Patentansprüchen 1 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß man die in Wasser oder physiologischer Salzlösung suspendierten Partikel mit den in der Galenik üblichen Zusätzen bzw. Stabilisatoren in eine für die enterale oder parenterale Applikation geeignete Form bringt.
26. Physiologisch verträgliche ferromagnetische Komplexe aus einem Doppelmetall-oxid/-hydroxid der allgemeinen Formel $MO.Fe_2O_3$, worin M ein zweiwertiges Metallion oder ein Gemisch aus zwei zweiwertigen Metallionen darstellt, oder der allgemeinen Formel $FeO.M_2O_3$, worin M ein dreiwertiges Metallion darstellt, und einem wasserlöslichen Mono-, Di-, Oligo- oder Polysaccharid oder Protein als Komplexbildner mit der Maßgabe, daß, wenn der Komplexbildner Humanserumalbumin oder Dextran ist, das Doppelmetall-oxid/-hydroxid nicht Magnetit ist.
27. Galactose-Magnetit-Komplex
28. Dextrin-Magnetit-Komplex
29. Dextran-Eisenchromit-Komplex
30. Dextran-Zinkferrit-Komplex

B-00-01-85

3508000

31. Verfahren zur Herstellung der Komplexe gemäß Patentanspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß man wäßrige Lösungen des Komplexbildners und der entsprechenden zwei- und dreiwertigen Metallsalze zusammengibt, Alkali-carbonate und -hydroxide hinzufügt und die gewünschten Komplexe in an sich bekannter Weise abtrennt und reinigt.
32. Verwendung von diagnostischen Mitteln gemäß Patentanspruch 1 für die NMR-Diagnostik.

Die Erfindung betrifft diagnostische Mittel zur Anwendung in der NMR-Diagnostik, die ferromagnetische Partikel enthalten, bestehend aus einem ferromagnetischen Doppelmetall-oxid/-hydroxid oder einem ferromagnetischen Metall und gegebenenfalls einem Komplexbildner.

Ferner betrifft die Erfindung neue Komplexe aus Doppelmetall-oxid/-hydroxid und einem Komplexbildner.

Als ferromagnetischer Bestandteil kommen Metallpartikel, wie Eisen-, Kobalt-, Nickelpartikel und Doppeloxide / Doppelhydroxide in Betracht, die zwei- und/oder dreiwertiges Eisen enthalten, wie beispielsweise Ferrite der allgemeinen Formel $MO.Fe_2O_3$, worin M ein zweiwertiges Metallion oder ein Gemisch aus zwei zweiwertigen Metallionen ist, oder beispielsweise Doppeloxide der allgemeinen Formel $FeO.M_2O_3$, worin M ein dreiwertiges Metallion ist. Bevorzugt sind im 1. Fall die physiologisch in geringen Mengen akzeptablen Elemente Magnesium, Zink, Eisen und Kobalt, gegebenenfalls auch noch in sehr geringen Mengen Mangan, Cadmium, Nickel, Kupfer, Barium und Strontium, im 2. Fall Chrom, Lanthan, Gadolinium, Europium, Dysprosium, Holmium, Ytterbium und Samarium.

Als Komplexbildner können wasserlösliche Mono-, Di-, Oligo- und Polysaccharide, Proteine und synthetische Schutzkolloide, wie Polyvinylalkohol oder Polyvinylpyrrolidon verwendet werden. Bevorzugt sind Zucker, Dextrane, Dextrine, Gelantine, Globuline und Albumine, wie zum Beispiel Humanserumalbumin, an die gegebenenfalls Biomoleküle geknüpft sind. Solche Biomoleküle können beispielsweise Hormone, wie Insulin, Prostaglandine, Steroide, sowie Amino-zucker, Peptide, Proteine oder Lipide sein. Besonders hervorzuheben sind Konjugate mit Albuminen, wie Humanserumalbumin, Staphylokokken-Protein A, Antikörpern, wie zum Beispiel monoklonale Antikörper und Konjugate oder Einschlußverbindungen mit Liposomen, die beispielsweise als unilamellare oder multilamellare Phosphatidylcholin-Cholesterol-Vesikel eingesetzt werden.

Als Komplexbildner können auch anorganische Schutzkolloide, wie zum Beispiel Zeolithe verwendet werden.

Komplexe von Magnetit (Fe_3O_4) mit Dextran bzw. mit Humanserumalbumin sind zum Beispiel beschrieben in den US-Patenten 4.101.435 und 4.452.773 bzw. in J. Pharm.Sci. 68, 79 (1979). Sie bilden in Wasser stabile Sole, die aufgrund ihrer magnetischen Eigenschaften vielfältige Verwendung finden können. So sind sie unter anderem als Drug-Carrier (vor allem für Cytotoxika bei der Tumorbehandlung), als Agens zur Messung des Blutstroms, als Marker in der Scanning/transmission-Elektronenmikroskopie, zur Kennzeichnung und Abtrennung von Zellen und Biomolekülen (zum Beispiel eines Antigens aus einer Antigenmischung, indem man Partikel benutzt, die kovalent an den entsprechenden Antikörper gebunden sind), sowie auch zur Anwendung auf mechanischem Gebiet (z.B. als magnetische Flüssigkeit) geeignet. Ferner ist Dextran-Magnetit als Relaxationsagens zur Messung des Wasseraustausches an Erythrozytenmembranen vorgeschlagen worden (Biochem. and Biophys. Res. Comm. 97, 114 (1980).

Ferromagnetische Zeolith-Partikel sind zum Beispiel zur Auftrennung von Kohlenwasserstoffgemischen verwendet worden (Europäische Patentanmeldung Publikations Nr. 0130043)

Es wurde nun gefunden, daß die erfindungsgemäßen Mittel überraschenderweise die vielfältigen Voraussetzungen für die Eignung als Kontrastmittel für die NMR-Diagnostik erfüllen. (Eine ausführliche Diskussion dieser Voraussetzungen findet sich in der Europäischen Patentanmeldung Publikations Nr. 71 564 und der Deutschen Patentanmeldung P 34 01 052.1).

So sind sie hervorragend dazu geeignet, nach enteraler oder parenteraler Applikation durch Veränderung der Signalintensität das mit Hilfe des Kernspintomographen erhaltene Bild in seiner Aussagekraft zu verbessern. Ferner zeigen sie die hohe Wirksamkeit, die notwendig ist, um den Körper mit möglichst geringen Mengen an Kontrastmitteln zu belasten, und die gute Verträglichkeit, die notwendig ist, um den nicht-invasiven Charakter der Untersuchung aufrechtzuerhalten.

Überraschenderweise ist die wirksame Dosis im Vergleich zu allen vorbekannten Kontrastmitteln außerordentlich gering, und zwar so gering, daß keinerlei Gefahr besteht, mit der in vivo notwendigen Dosierung in den toxischen Bereich zu gelangen.

Die gute Wasserlöslichkeit der erfindungsgemäßen Mittel erlaubt es, hochkonzentrierte Lösungen herzustellen, um die Volumenbelastung des Kreislaufs in vertretbaren Grenzen zu halten und die Verdünnung durch die Körperflüssigkeit auszugleichen. Weiterhin weisen die erfindungsgemäßen Mittel nicht nur eine hohe Stabilität in vitro, sondern auch eine überraschend hohe Stabilität in vivo auf.

Ein besonderer Vorzug der erfindungsgemäßen Mittel ist es, daß mit ihnen aufgrund spezifischer pharmakokinetischer Eigenschaften Gewebe, Organe und Organsysteme in ihrer Signalintensität im Kernspintomogramm stark verändert werden können. Zum ersten Mal stehen gut verträgliche Kontrastmittel u.a. für die bildliche Darstellung von Tumoren der Leber und Milz zur Verfügung. Durch Bindung des ferromagnetischen Materials an Biomoleküle wie zum Beispiel monoklonale für tumorassoziierte Antigene spezifische Antikörper oder Anti-Myosin, gelingt eine Verbesserung der Tumor- und Infarkt-Diagnostik. Als monoklonale Antikörper für die Konjugation kommen insbesondere solche infrage, die gegen überwiegend zellmembranständige Antigene gerichtet sind. Als solche sind zum Beispiel für die Tumordarstellung monoklonale Antikörper bzw. deren Fragmente ($F(ab)_2$) geeignet, die zum Beispiel gegen das Carcinoembryonale Antigen (CEA), humanes Choriogonadotropin (β -hCG) oder andere tumorständige Antigene, wie Glycoproteine, gerichtet sind. Geeignet sind u.a. auch Anti-Myosin-, Anti-Insulin- und Anti-Fibrin-Antikörper.

Für Leberuntersuchungen eignen sich vorzugsweise Konjugate oder Einschlußverbindungen mit Liposomen. Die Diagnostik im Magen-Darm-Bereich wird durch enterale Applikation der erfindungsgemäßen Mittel verbessert, wodurch beispielsweise eine bessere Abgrenzung von Darmabschnitten bei Pankreas-Untersuchungen erreicht wird.

Die Herstellung der Doppelmetall-oxid/-hydroxid-Komplexe erfolgt in an sich bekannter Weise dadurch, daß man wäßrige Lösungen der entsprechenden zwei-

3508000

und dreiwertigen Metallsalze, beispielsweise die Halogenide, zusammengibt. Dann wird mit Alkalicarbonaten und mit Alkalihydroxiden, vorzugsweise Ammonium- oder Natriumhydroxid, versetzt,

um den pH-Wert zu erhöhen und die Metalloxid- bzw. Metallhydroxid-Partikel zu erzeugen, an die der Komplexbildner bindet. Durch zum Beispiel Zentrifugieren sowie zum Beispiel Gelfiltrations-Chromatographie und/oder Dialyse kann eine Abtrennung und Reinigung der gewünschten Komplexe erfolgen.

In einer anderen Herstellungsweise wird das fein gemahlene Doppeloxid bzw. Metall mit dem Schutzkolloid komplexiert (siehe z.B. J. Pharm. Sci. 68, 79, (1979)).

Die Bindung der Biomoleküle an die organischen Schutzkolloide erfolgt in an sich bekannter Weise nach Methoden, wie ^{sie}zum Beispiel in Rev.roum.Morphol. Embryol. Physiol., Physiologie 1981, 18, 241 und J.Pharm. Sci. 68, 79 (1979) beschrieben sind.

Die Herstellung ferromagnetischer Zeolith-Partikel kann zum Beispiel nach der in der Europäischen Patentanmeldung -Publikations Nr. 130043 angegebenen Vorschrift erfolgen.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen diagnostischen Mittel erfolgt ebenfalls in an sich bekannter Weise, indem man die erfindungsgemäßen Partikel gegebenenfalls unter Zugabe der in der Galenik üblichen Zusätze in wäßrigem Medium suspendiert und anschließend die Suspension gegebenenfalls sterilisiert. Geeignete Zusätze sind beispielsweise physiologisch unbedenkliche Puffer (wie z.B. Tromethamin) oder, falls erforderlich, Elektrolyte wie zum Beispiel Natriumchlorid.

Sind für die enterale Verabreichung oder andere Zwecke Suspensionen der erfindungsgemäßen Mittel in Wasser oder physiologischer Salzlösung erwünscht, werden sie mit einem oder mehreren in der Galenik üblichen Hilfsstoffen (z.B. Methylcellulose, Lactose, Mannit) und/oder Tensiden (z.B. Lecithine, Tweens ^(R), Myrj ^(R)) und/oder Aromastoffen zur Geschmackskorrektur (z.B. ätherischen Ölen) gemischt.

Die Mittel, die unkomplexierte ferromagnetische Partikel enthalten, sind vorzugsweise für die enterale Applikation geeignet.

Die erfindungsgemäßen diagnostischen Mittel enthalten 1 μMol bis 1 Mol, vorzugsweise 0,1 bis 100 mMol ferromagnetisches Metall pro Liter und werden in der Regel in Mengen von 0,001 bis 100 μMol , vorzugsweise 0,1 bis 10 μMol ferromagnetisches Metall pro Kilogramm Körpergewicht dosiert. Sie sind zur enteralen und parenteralen Applikation bestimmt.

Die folgenden Ausführungsbeispiele dienen zur weiteren Erläuterung der Erfindung.

Beispiel 1

Eine Lösung von 100 g Galactose in 824 ml Wasser wird mit 140 ml einer 1-molaren Eisen-III-chloridlösung und mit 70 ml einer 1-molaren Eisen-II-chloridlösung versetzt, so daß ein Eisengehalt von 11,71 g resultiert. Die Mischung wird bei Raumtemperatur durch tropfenweise Zugabe einer 20 gew.-%igen wäßrigen Natriumcarbonatlösung auf pH 2,4 gebracht. Nach Beendigung der Gasentwicklung setzt man 45 ml einer 10-normalen Natronlauge zu und erhitzt die Mischung 30 Minuten zum Rückfluß. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur bringt man durch Zugabe von 6-normaler Salzsäure auf pH 6,2 und fällt anschließend den Komplex durch Zugabe von 2 Liter Ethanol unter Rühren. Man zentrifugiert ab, löst den Rückstand in Wasser und entfernt Fremdionen durch Dialyse. Die gereinigte Lösung wird im Vakuum eingeeengt, filtriert und lyophilisiert. Man erhält den gewünschten Galactose-Magnetit-Komplex als braunes Pulver.

Beispiel 2

80 g Dextrin (Polymaltose, basale Viskosität 0,05/25°C) werden in 180 ml Wasser bei 70°C in Lösung gebracht. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird in eine Mischung aus 70 ml 1-molarer Eisen-III-chloridlösung und 35 ml einer 1-molaren Eisen-II-chloridlösung eingerührt. Dann bringt man die Mischung durch tropfenweise Zugabe einer 20 gewichts-%igen wäßrigen Natriumcarbonatlösung auf pH 1,7. Nach Beendigung der Gasentwicklung stellt man durch tropfenweise Zugabe von 10 n-Natronlauge einen pH-Wert von 11,0 ein und erhitzt 30 Minuten zum Rückfluß. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur bringt man durch

Zugabe von 6-normaler Salzsäure auf pH 6,2, fällt den Komplex durch Zugabe von 500 ml Ethanol, zentrifugiert, löst den Rückstand in Wasser und entfernt Fremdionen durch Dialyse. Die kolloide Lösung wird nach Filtration lyophilisiert. Man erhält den gewünschten Dextrin-Magnetit-Komplex als schwarzes Pulver.

Beispiel 3

Eine Lösung von 2,5 g Humanserumalbumin in 10 ml Wasser wird mit 720 mg Eisenchromit, $\text{FeO} \cdot \text{Cr}_2\text{O}_3$, in Form von Partikeln mit einem Durchmesser von 10-20 nm versetzt. Die Suspension wird in 600 ml Baumwollsaatöl eingetragen und die Emulsion durch Ultrabeschallung (100W, 1 min bei 4°C) homogenisiert. Dann wird die Emulsion tropfenweise unter intensivem Rühren in 2 Liter 120°-heißes Baumwollsaatöl eingegossen. Nach weiterem 10 minütigem Erhitzen auf 120° kühlt man auf Raumtemperatur ab und wäscht die erhaltenen Mikropartikel mit Hilfe von Methyl-t-Butylether ölfrei. Nach 24 stündigem Trocknen bei 4° unter Lichtausschluß erhält man den gewünschten Humanserumalbumin-Eisenchromit-Komplex als tiefschwarzes Pulver.

Beispiel 4

112 mg Dextrin-Magnetit-Komplex (Beispiel 2) werden in 20 ml einer 0,9%igen Kochsalzlösung eingetragen. Das 15 Minuten bei 110°C pasteurisierte Sol dient zur parenteralen Applikation.

Beispiel 5

Ein Granulat, hergestellt aus 12 mg Dextrin-Magnetit-Komplex (Beispiel 2), 2,42 g Tromethamin, 45 g Mannit und 10 g Tylose, wird in 1000 ml Aqua dest. eingerührt für die enterale Applikation verwendet.

Beispiel 6

150 mg Galactose-Magnetit-Komplex (Beispiel 1) werden in 25 ml einer 0,9%igen Kochsalzlösung eingerührt. Man füllt in Ampullen ab, die hitzesterilisiert werden.

Beispiel 7

Ein Granulat, hergestellt aus 50 mg Galactose-Magnetit-Komplex (Beispiel 1), 3,00 g Tromethamin, 50 g Mannit und 10 g Tylose wird in 1000 ml Aqua dest. eingerührt und in Flaschen zur enteralen Applikation abgefüllt.

Beispiel 8

Ein Granulat, hergestellt aus 20 mg Albumin-Eisenchromit-Komplex (Beispiel 3), 1,8 g Tromethamin, 50 g Mannit und 8 g Tylose, wird in 750 ml Aqua dest. eingerührt und für die enterale Applikation verwendet.

BEISPIEL 9:

Eine Lösung von 250 mg Humanserumalbumin in 0,75 ml Wasser wird mit 65 mg Zinkferrit, ZnFe_2O_4 , in Form von Partikeln mit einer Teilchengröße von 10 - 20 nm im Durchmesser, versetzt. Die Suspension wird in 20 ml Baumwollsaatöl eingegossen und die gebildete Emulsion durch Ultraschallung (100 w, 1 min bei 40° C) homogenisiert. Dann wird das gekühlte Homogenat unter intensivem Rühren in 10 ml ca. 120° C - heißes Baumwollsaatöl eingegossen. Man läßt noch 10 min bei 120° C rühren, kühlt auf Raumtemperatur ab und wäscht die Mikropartikel mit Hilfe von Methyl-tert.butylether ölfrei. Nach 24 stündigem Trocknen im Vakuum unter Lichtausschluß bei 40° C erhält man den gewünschten Humanserumalbumin - Zinkferrit-Komplex in Form von Mikropartikeln mit einem Durchmesser von 500 ± 100 nm.

BEISPIEL 10:

Eine Suspension von 31 mg Humanserumalbumin, 10 mg Magnetit, Fe_3O_4 , und 6 mg Protein A (Pharmacia, Freiburg) in 0,12 ml Wasser wird mit 20 ml Baumwollsaatöl im Ultraschallbad homogenisiert (100 w, 1 Min bei 40° C). Dann wird das Homogenat unter intensivem Rühren in 15 ml ca. 120° - heißes Baumwollsaatöl eingegossen. Man läßt noch 10 min bei 120° rühren, kühlt auf Raumtemperatur ab und wäscht die Mikropartikel mit Hilfe von Methyl-tert.butylether ölfrei (jeweils 15 min Zentrifugieren bei 2000 xg). Nach 24 stündigem Trocknen im Vakuum unter Lichtausschluß bei 40° C erhält man das gewünschte Humanserumalbumin - Magnetit-Protein A - Konjugat in Form von Mikropartikeln mit einem Durchmesser von 200 ± 80 nm. 0,5 mg Konjugat werden in 1 ml 0,01 m Phosphatpuffer bei pH 8 und 37° C 30 min mit 500 µg Anti-CEA inkubiert. Dann werden die Mikropartikel dreimal mit Pufferlösung gewaschen und nach Zentrifugieren gefriergetrocknet. Die Bindungskapazität beträgt 80 ± 3 µg / mg Antikörper / Mikropartikel. Das Konjugat wird in physiologischer Kochsalzlösung zur parenteralen Applikation verwendet. Durch Inkubieren des Humanserumalbumin-Magnetit-Protein A-Konjugates mit Anti-Myosin erhält man in analoger Weise das entsprechende Antikörperkonjugat zur parenteralen Applikation.

BEISPIEL 11:

Zu einer Lösung von 2 g Dextran- Magnetit (Meito Sangyo Co.Ltd.) in 30 ml Wasser gibt man eine Lösung von 3,3 g Kaliumhydroxid in 12 ml Wasser. Man läßt 10 Min rühren, kühlt auf 5° C ab und versetzt mit einer Lösung von 1,5 g 2-Bromethylamin in 1,8 ml Wasser. Man läßt zwei Stunden unter Kühlung nachrühren und dann über Nacht auf Raumtemperatur kommen. Dann gibt man bei pH 6,8 2,5 g Glutaraldehyd zu und hält den Ansatz 18 Stunden bei Raumtemperatur. Nach Filtration über Aktivkohle wird eingeeengt und das polymere Produkt durch Fällern mit Aceton isoliert. Man wäscht das abgesaugte Produkt mit Aceton und trocknet es im Vakuum. Zu 20 µl einer Lösung von 0,3 mg Anti-CEA in 0,05 molarem Natriumbicarbonatpuffer (pH 7 - 8) werden 2 mg des derivatisierten Dextran-Magnetits gegeben. Nach mehrstündiger Inkubationszeit wird die erhaltene Lösung gegen 0,3 molaren Natriumphosphatpuffer dialysiert und anschließend über eine Sephadex G 25 - Säule gereinigt. Durch Gefriertrocknung wird das gewünschte Antikörper-Konjugat isoliert, das zur parenteralen Applikation verwendet wird.

In analoger Weise erhält man das entsprechende Dextran-Magnetit-Anti-Myosin-Konjugat.

BEISPIEL 12:

Ein Granulat, hergestellt aus 50 mg Zeolith Y- Magnetit - Komplex (hergestellt nach Europ. Pat. Anm. 0130 043), 3 g Tromethamin, 30 g Mannit und 15 g Tylose wird in 1000 ml Wasser pro injektion eingerührt und in Flaschen zur enteralen Applikation abgefüllt.

BEISPIEL 13:

150 mg Humanserumalbumin - Zinkferrit-Komplex (Beispiel 9)
werden in 25 ml 0,9 % iger Kochsalzlösung suspendiert und in Ampullen
abgefüllt, die pasteurisiert werden.

BEISPIEL 14:

Ein Granulat, hergestellt aus 1000 mg Eisen-Zeolith-Y - Komplex
(hergestellt nach Europ. Anm. 0130043), 5 g Tromethamin,
300 g Mannit und 100 g Tylose werden in 20 l Wasser pro injectione
suspendiert und in Flaschen zur oralen Applikation abgefüllt.

BEISPIEL 15:

Nach den in Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75, 4194 beschriebenen Vorgehens-
weise wird ein Lipidgemisch aus 75 Mol % Ei-Phosphatidylcholin und
25 mol % Cholesterol als Trockensubstanz hergestellt. Hiervon werden
500 mg in 30 ml Diethylether gelöst und im Ultraschallbad tropfenweise mit
3 ml eines mit 0,9 %iger Kochsalzlösung im Verhältnis 1:2 verdünnten Dextran-
Magnetit-Sols versetzt. Dann setzt man
die Ultraschallung noch 10 Min fort und engt im Rotavapor schonend
ein. Der gelartige Rückstand wird in einer 0,125 molaren Kochsalz-
lösung suspendiert und bei 40° C wiederholt durch Zentrifugieren
(20000 g / 20 Min) von nicht verkapselten Anteilen befreit. Die so
behandelten Liposomen werden im Multivial gefriergetrocknet. Die
intravasale Applikation erfolgt als kolloidale Dispersion in physio-
logischer Kochsalzlösung.